

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

**PRIORITY  
DOCUMENT**

**COPIE OFFICIELLE**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **27 JAN. 1999**

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

**SIEGE**

26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS Cédex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

# BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITE

Code de la propriété intellectuelle-Livre VI

cerfa

N° 55-1328

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

<b>DATE DE REMISE DES PIÈCES</b> 29 JAN 1998 <b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b> 98 01001 - <b>DÉPARTEMENT DE DÉPÔT</b> AS <b>DATE DE DÉPÔT</b> 29 JAN. 1998		<b>1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE</b>  CABINET BEAU DE LOMENIE 158, rue de l'Université 75340 PARIS CEDEX 07  <b>n° du pouvoir permanent</b> H24600/2-PH <b>références du correspondant</b> <b>01.44.18.89.00</b> <b>date</b>									
<b>2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle</b> <input checked="" type="checkbox"/> brevet d'invention <input type="checkbox"/> demande divisionnaire <input type="checkbox"/> certificat d'utilité <input type="checkbox"/> transformation d'une demande de brevet européen <b>Établissement du rapport de recherche</b> <input type="checkbox"/> différé <input checked="" type="checkbox"/> immédiat Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <b>Titre de l'invention (200 caractères maximum)</b>  "Nouveaux copolymères tensioactifs à base de méthylidène malonate"		<b>3 DEMANDEUR (S)</b> n° SIREN code APE-NAF <b>Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination</b>  VIRSOL  <b>Forme juridique</b>  Société en Nom Collectif  <b>Nationalité (s)</b> Française <b>Adresse (s) complète (s)</b> 46, rue Boissière 75116 PARIS <b>Pays</b>  FR									
<b>4 INVENTEUR (S)</b> Les inventeurs sont les demandeurs <input type="checkbox"/> oui <input checked="" type="checkbox"/> non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée											
<b>5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b> <input type="checkbox"/> requise pour la 1ère fois <input type="checkbox"/> requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission											
<b>6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE</b> <table border="1"><thead><tr><th>pays d'origine</th><th>numéro</th><th>date de dépôt</th><th>nature de la demande</th></tr></thead><tbody><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr></tbody></table>				pays d'origine	numéro	date de dépôt	nature de la demande				
pays d'origine	numéro	date de dépôt	nature de la demande								
<b>7 DIVISIONS</b> antérieures à la présente demande n° date n° date											
<b>8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (nom et qualité du signataire - n° d'inscription) Philippe HUBERT Cabinet de Propriété Industrielle 158, rue de l'Université 75340 PARIS CEDEX 07		<b>SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION</b> <b>SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI</b> 									

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 Paris Cédex 08

Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

980/001

TITRE DE L'INVENTION :

"Nouveaux copolymères tensioactifs à base de méthylidène malonate"

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

VIRSOL

Société en nom collectif

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

1. BRU-MAGNIEZ Nicole  
24-26, avenue Raphaël  
75016 Paris  
FRANCE

2. LARRAS Virginie  
7, place des Tonneliers  
68100 MULHOUSE  
FRANCE

3. RIESS Gérard  
31, rue du Meunier  
68200 MULHOUSE  
FRANCE

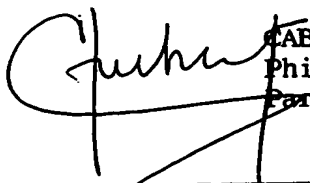
4. BRETON Pascal  
La Taille Haute  
R.D. 13  
45510 TIGY  
FRANCE

5. COUVREUR Patrick  
1bis, rue du Lac Léman  
91140 VILLEBON S/YVETTE  
FRANCE

6. ROQUES-CARMES Claude  
3, Chemin de la Barre  
aux Chevaux  
25000 BESANCON  
FRANCE

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire



CABINET BEAU DE LOMENIE  
Philippe HUBERT - CPI n° 94-0308  
Paris, le 29 janvier 1998

La présente invention concerne généralement une nouvelle famille de copolymères tensioactifs biocompatibles présentant un large spectre d'utilisations, notamment dans le domaine pharmaceutique et pour la synthèse de matériaux à l'état dispersé ainsi que le traitement de surface de matériaux ou biomatériaux.

5 L'invention a plus particulièrement pour objet des copolymères biocompatibles tensioactifs comportant une ou plusieurs séquences à caractère hydrophobe constituées majoritairement d'unités récurrentes ou non répondant à la formule générale définie ci-après, formant en particulier un poly(méthylidène malonate).

10 On connaît depuis longtemps des copolymères tensioactifs formés d'une ou plusieurs séquences présentant un caractère hydrophile et une ou plusieurs séquences présentant un caractère hydrophobe.

En particulier, les produits constitués de séquences polyoxyéthylène à caractère hydrophile et de séquences polyoxypropylène à caractère hydrophobe et  
15 commercialisés sous la dénomination PLURONIC<sup>®</sup> sont couramment utilisés pour la préparation de compositions à usage cosmétique ou pharmaceutique.

Le principal inconvénient de ces copolymères provient du fait qu'ils ne comportent aucune séquence biodégradable.

Des copolymères tensioactifs comportant des séquences biodégradables ont  
20 déjà été décrits par exemple dans le document EP 583955. Il s'agit de copolymères à blocs contenant des unités d'oxyde d'éthylène et des unités dérivées d'acides aminés en tant que séquences hydrophobes.

La biodégradabilité de ces copolymères connus s'accompagne d'une coupure de la chaîne principale.

25 Il a été découvert, et ceci constitue le fondement de la présente invention, une nouvelle famille de copolymères tensioactifs biocompatibles et biodégradables par un mécanisme de bioérosion qui ne modifie pas sensiblement le degré de polymérisation dudit copolymère.

30 Plus précisément, les copolymères conformes à l'invention sont susceptibles de se dégrader par voie chimique ou biochimique par coupure des substituants latéraux constituant les séquences à caractère hydrophobe et cette bioérosion s'accompagne avantageusement du passage d'un copolymère présentant les caractéristiques d'un tensioactif à un copolymère entièrement hydrophile de même degré de polymérisation que le polymère de départ.

Les copolymères conformes à la présente invention présentent de très nombreux avantages par rapport aux copolymères tensioactifs connus à ce jour, qui résultent de la structure chimique particulière de leurs séquences à caractère hydrophobe.

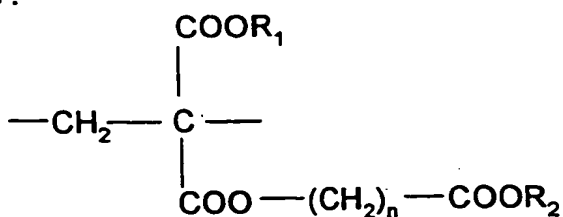
5 Ces séquences permettent notamment de fournir des copolymères présentant des structures variées, à blocs ou greffées, ces dernières étant difficilement accessibles dans le cas des copolymères décrits par exemple dans le document EP 583 955.

10 La grande réactivité, aussi bien en polymérisation anionique que radicalaire, des monomères utilisés pour réaliser ces séquences à caractère hydrophobe facilite l'ajustement des masses moléculaires de ces séquences et par conséquent des propriétés des copolymères.

Enfin, les copolymères conformes à la présente invention présentent, selon la structure chimique de leurs séquences à caractère hydrophobe, des cinétiques de 15 dégradation variées et conviennent donc à un large spectre d'applications.

Ainsi, selon un premier aspect, la présente demande vise à couvrir des copolymères biocompatibles du type comportant au moins une séquence présentant un caractère hydrophile et au moins une séquence présentant un 20 caractère hydrophobe, caractérisés en ce que ladite séquence à caractère hydrophobe est formée :

– soit d'un homopolymère constitué d'unités récurrentes répondant à la formule générale (I) suivante :



25 dans laquelle :

- $R_1$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ou un groupe  $(\text{CH}_2)_m-\text{COOR}_3$  dans lequel  $m$  est un nombre entier compris entre 1 et 5 et  $R_3$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ;
- $R_2$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ; et
- 30 –  $n$  est un nombre entier compris entre 1 et 5 ;

- soit d'un copolymère statistique constitué d'unités récurrentes différentes répondant à la formule (I) telle que définie précédemment ;
  - soit enfin d'un copolymère statistique majoritairement constitué d'unités
- 5 répondant à la formule (I) telle que définie précédemment.

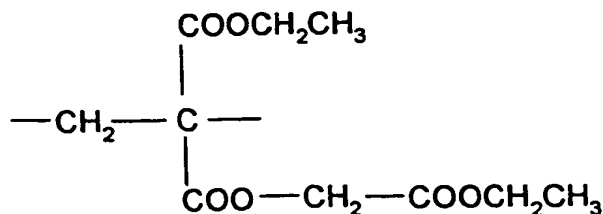
Avantageusement, la séquence à caractère hydrophobe précitée sera formée d'un homopolymère constitué d'unités récurrentes répondant à la formule (I) telle que définie précédemment.

- 10 Sans sortir du cadre de l'invention, cette séquence à caractère hydrophobe peut être également formée d'un copolymère statistique constitué d'unités récurrentes différentes répondant à la formule (I) telle que définie précédemment ou bien encore d'un copolymère statistique majoritairement constitué d'unités
- 15 répondant à la formule (I) telle que définie précédemment, c'est à dire constitué pour au moins 50 %, exprimé en proportion molaire, de telles unités, les autres unités pouvant être formées de monomères acryliques, vinyliques, maloniques

Selon un mode de réalisation actuellement préféré de l'invention, la séquence à caractère hydrophobe précitée est constituée d'unités récurrentes répondant à la formule générale (I) précitée dans laquelle :

- 20  $R_1$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ;  
 $R_2$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ; et  
 $n$  est un nombre égal à 1.

- Selon un mode de réalisation particulièrement préféré de l'invention, la
- 25 séquence à caractère hydrophobe précitée est formée d'un homopolymère constitué d'unités récurrentes répondant à la formule :



Selon une caractéristique particulière, la séquence à caractère hydrophile des copolymères biocompatibles conformes à la présente invention est choisie parmi un poly(oxyéthylène), un poly(alcoolvinylique), une poly(vinylpyrrolidone), un poly(N=2-hydroxypropyl méthacrylamide), un poly(hydroéthyl méthacrylate), un  
 5 poly(amino acide) hydrophile tel qu'une polylysine, un polysaccharide, et sera de préférence constituée d'un poly(oxyéthylène).

Les copolymères conformes à la présente invention peuvent présenter des structures variées, à blocs ou greffées.

Ces copolymères peuvent être caractérisés de façon générale :

- 10 – par une teneur pondérale en séquences à caractère hydrophobe comprise en 5 et 95 %, de préférence entre 10 et 90 % ;
- par une masse molaire totale des séquences à caractère hydrophobe comprise entre 1.000 et 80.000 g/mol, et de préférence entre 1.000 et 50.000 g/mol.

15 Les copolymères conformes à la présente invention peuvent être préparés par des techniques de polymérisation classiques bien connues de l'homme de métier.

Parmi ces techniques, on utilisera de préférence la polymérisation par voie anionique, la polymérisation par voie radicalaire, ou encore la technique de couplage des séquences précurseurs du copolymère, ces séquences ayant été au  
 20 préalable fonctionnalisées en bout de chaîne de façon adéquate.

La polymérisation par voie anionique convient plus particulièrement à la préparation de copolymères à blocs.

Elle comporte l'addition séquentielle des monomères et permet d'obtenir des copolymères de structure parfaitement définie, les quantités d'amorceurs et de  
 25 monomères engagés permettant de contrôler le degré de polymérisation de chacune des séquences.

Un copolymère à blocs peut être ainsi obtenu :

- soit par polymérisation anionique d'un premier monomère et réaction sur la chaîne en croissance d'un second monomère ;
- 30 – soit par activation d'un polymère précurseur qui servira d'amorceur à la polymérisation d'un second monomère.



Les agents d'amorçage susceptibles d'être utilisés dans le cadre de ces polymérisations par voie anionique seront généralement :

- d'une part, les dérivés organométalliques comme le butyllithium et en particulier le diphénylhexyllithium ;

5       - d'autre part, des alcoolates et en particulier les alcoolates macromoléculaires tel qu'un alcoolate de POE qui peuvent être générés par activation d'une fonction hydroxy à l'aide de cumylpotassium, de diphénylméthylpotassium, de naphthalène potassium.

10       La polymérisation par voie anionique sera généralement réalisée dans un solvant compatible avec les diverses séquences du copolymère.

      Dans le cas où la séquence à caractère hydrophile est constituée d'un poly(oxyéthylène) et la séquence à caractère hydrophobe est constituée d'un poly(méthylidène malonate), les copolymères à blocs selon l'invention seront préparés de préférence par polymérisation anionique successive de l'oxyde  
15 d'éthylène puis du méthylidène malonate ou par activation d'un précurseur polyoxyéthyléné monohydroxylé commercial et polymérisation anionique subséquente de la séquence poly(méthylidène malonate).

20       D'une façon générale, on utilisera de préférence le tétrahydrofurane comme solvant de polymérisation, ce produit permettant de travailler en milieu homogène et influençant favorablement la cinétique de polymérisation.

      En ce qui concerne les monomères de départ, les méthylidène malonate pourront être préparés par exemple en suivant le procédé décrit dans le brevet EP 283346 correspondant aux brevets US 4 931 584 et US 5 142 098 incorporés ici  
25 par référence, et seront généralement dégazés sous vide de pompe à palettes jusqu'à poids constant pour éliminer l'inhibiteur de polymérisation (SO<sub>2</sub>).

      Les monomères utilisés pour la préparation des séquences hydrophiles seront généralement des produits commerciaux.

      La technique de couplage convient également plus particulièrement à la préparation de copolymères à blocs.

30       Cette réaction est généralement réalisée à partir d'homopolymères présynthétisés et fonctionnalisés, en présence d'un agent de couplage et éventuellement d'un agent d'activation, dans un solvant approprié.

Dans le cas de la préparation des copolymères préférés selon l'invention, dont la séquence hydrophile est constituée d'un poly(oxyéthylène) et la séquence hydrophobe est constituée d'un poly(méthylidène malonate), on utilisera — avantageusement un homopolymère du poly(oxyéthylène) fonctionnalisé par un  
5 groupement  $\alpha$ -carboxy et un homopolymère du poly(méthylidène malonate) fonctionnalisé par un groupement  $\alpha$ -hydroxy.

L'homopolymère du poly(oxyéthylène) fonctionnalisé par un groupement  $\alpha$ -carboxy peut être obtenu par exemple par transformation par l'anhydride succinique d'un poly(oxyéthylène) fonctionnalisé par un groupement  $\alpha$ -hydroxy  
10 commercial.

L'homopolymère du poly(méthylidène malonate) fonctionnalisé par un groupement  $\alpha$ -hydroxy peut être obtenu directement par synthèse anionique en milieu aqueux ou par synthèse anionique dans un solvant en utilisant une solution aqueuse de soude comme amorceur de la polymérisation.

15 En tant qu'agent de couplage particulièrement adapté à cette polymérisation, on utilisera avantageusement le dicyclohexylcarbodiimide (DCCI).

La réaction de couplage peut être éventuellement activée par catalyse basique et se déroulera généralement dans un solvant compatible avec les homopolymères, comme en particulier le dichlorométhane dans le cas particulier  
20 des copolymères préférés de l'invention.

La polymérisation par voie radicalaire convient plus particulièrement à la préparation de copolymères greffés.

Cette polymérisation est généralement réalisée à partir d'un macromonomère, c'est à dire d'un oligomère portant à l'une de ses extrémités un groupement  
25 éthylénique polymérisable par voie radicalaire et susceptible de réagir avec un monomère pour former un copolymère à structure greffée.

Cette polymérisation sera généralement réalisée en présence d'un amorceur dans un solvant approprié.

Dans le cas de la préparation des copolymères préférés selon l'invention,  
30 dont la séquence hydrophile est constituée d'un poly(oxyéthylène) divers macromomères fonctionnalisés pourront être utilisés.

On préférera plus particulièrement utiliser un macromonomère de poly(oxyéthylène) fonctionnalisé par un groupement méthacryloyle.

Un tel produit peut être commercial (Aldrich) et sera constitué par exemple d'une chaîne de poly(oxyéthylène) de masse molaire comprise entre 308 et 440 g/mol, ou sera préparé à partir d'un poly(éthylèneglycol)monométhyléther commercial par couplage avec l'acide méthacrylique dans le dichlorométhane pour former une fonction terminale méthoxy.

On peut encore préparer un tel macromonomère par activation d'un poly(oxyéthylène) et réaction subséquente sur le chlorure de méthacryloyle.

Les copolymères à structures greffées selon l'invention, peuvent également être préparés par transestérification d'un poly(oxyéthylène) monométhyléther sur des chaînes latérales esters d'un poly(méthylidène malonate) pré-synthétisé.

Cette transestérification sera généralement réalisée avec de l'alcool en présence d'un catalyseur à température élevée.

D'une façon générale, les copolymères conformes à la présente invention ont un large spectre d'applications en tant que tensioactifs.

Ces copolymères permettent en particulier de réduire la tension superficielle de l'eau et la tension interfaciale d'un système eau-solvant organique non miscible à l'eau.

Ces copolymères permettent encore de préparer des systèmes micellaires en milieu aqueux, notamment utiles comme vecteurs de principes actifs.

Ces copolymères permettent également de préparer ou de stabiliser des émulsions simples de type eau-dans-huile ou huile-dans-eau.

Ces copolymères permettent encore d'encapsuler des substances actives variées, en particulier les substances à usage thérapeutique.

Les copolymères conformes à la présente invention trouvent encore application comme colloïdes protecteurs pour la stabilisation de nano particules.

Ils seront particulièrement utiles lorsque ces particules sont réalisées à partir de polymères comportant des unités récurrentes identiques à celles de leurs séquences à caractère hydrophobe, ce qui facilite comme on le comprend, l'ancrage du copolymère en surface de ces particules tout en leur conférant un caractère biocompatible et hydrophile du fait de la présence dans ledit copolymère d'au moins une séquence hydrophile biocompatible.

Les copolymères conformes à l'invention peuvent également être utilisés comme agents de traitement de surface de matériaux ou de biomatériaux en particulier pour conférer un caractère hydrophile aux surfaces traitées par ancrage desdits copolymères ou pour minimiser l'adhésion interfaciale avec des tissus animaux, des cellules ou des biomolécules, lorsque ces matériaux ou biomatériaux sont susceptibles d'entrer en contact avec lesdites cellules ou biomolécules.

Les copolymères conformes à la présente invention peuvent également être utilisés pour la fabrication de particules susceptibles d'être utilisées comme agents de contraste.

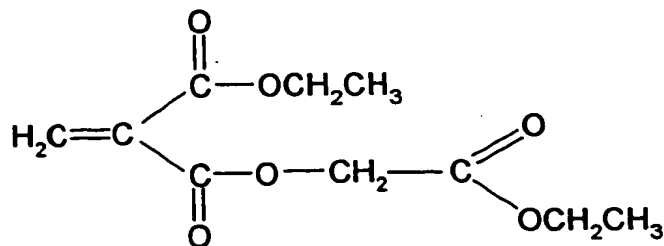
Les copolymères conformes à la présente invention peuvent encore être utilisés comme matériaux biocompatibles, par exemple sous forme de films ou de pièces moulées, ainsi que pour le traitement de surface de structures implantaires et pour minimiser ou favoriser les mécanismes d'adsorption interfaciaux.

La présente invention va maintenant être illustrée par les exemples non limitatifs suivants. Dans ces exemples, les abréviations suivantes ont été utilisées :

**OE** : oxyde d'éthylène

**POE** : poly(oxyéthylène)

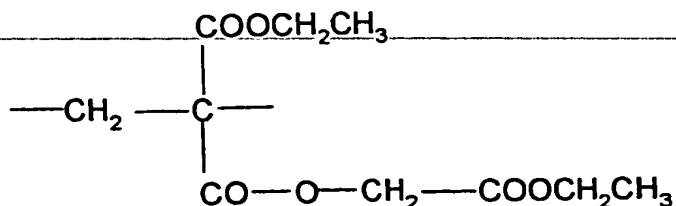
**MM 2.1.2** : méthylidène malonate répondant à la formule :



25

encore dénommé : 1-éthoxycarbonyl-1-éthoxycarbonylméthylène-oxycarbonyléthène

**PMM 2.1.2** : polymère constitué d'unités monomères récurrentes répondant à la formule



5

**THF** : Tétrahydrofurane

**I.P.** : Indice de polymolécularité

10

**DCCI** : Dicyclohexylcarbodiimide

**DMAP** : Diméthylaminopyridine

**PEG** : Polyéthylène glycol

15

**Exemple 1 : Préparation d'un copolymère à blocs selon l'invention par voie anionique**

20 Un copolymère à blocs POE-PMM 2.1.2 a été obtenu par polymérisation successive des deux monomères en commençant par la préparation du bloc POE, par la mise en oeuvre du protocole expérimental suivant.

Le réacteur dans lequel est effectué la polymérisation (250 ml) est raccordé à une rampe à vide permettant de travailler sous vide poussé et de s'affranchir des impuretés protiques.

25

Le solvant (THF, 150 ml) purifié de toute trace d'humidité est cryodistillé dans le réacteur à  $-70^{\circ}\text{C}$ .

L'amorceur (Terbutanolate de potassium (0.1N/THF) ; 10 ml) est ensuite ajouté à l'aide d'une seringue au travers d'un septum.

L'oxyde d'éthylène (5 g) est alors introduit par cryodistillation.

La polymérisation s'effectue à température ambiante pendant 48 heures. Après cette durée, un prélèvement permet de contrôler, par chromatographie par perméation de gel, la masse molaire (4.000 g/mol) et l'indice de polymolécularité (1.13) de la première séquence.

- 5        Le MM 2.1.2 (0,5 ml) fraîchement dégazé sous vide pour enlever le SO<sub>2</sub> utilisé comme inhibiteur de polymérisation, est alors rajouté rapidement et en une seule fois à température ambiante.

Après 5 heures, le copolymère est désactivé par ajout de méthanol et précipité dans l'éther diéthylique.

- 10       5 motifs dérivés de MM 2.1.2 sont fixés au POE, ce qui correspond à une masse molaire pour le PMM 2.1.2 de 1.150 g/mol.

L'analyse thermique du copolymère révèle une température de transition vitreuse de - 16°C ainsi qu'un pic de fusion de 45°C ( $\Delta H = 117$  J/g).

15       **Exemple 2 : Préparation de copolymères à blocs selon l'invention par voie anionique**

Le protocole expérimental est le même que celui décrit pour l'exemple 1.  
Les réactifs suivants ont été utilisés :

20

Solvant : THF 100 ml

Oxyde d'éthylène (OE) : 3 g

Amorceur : diphénylméthyle potassium (0.25 N/THF) : 3 ml

MM 2.1.2 : soit 2 ml ou soit 3,2 ml

25

Le POE synthétisé a une masse molaire de 3.600 g/mol (I.P = 1.12).

- L'ajout de la seconde séquence à température ambiante conduit à un copolymère de masse molaire finale de 5.900 g/mol (pour 2 ml de monomère ajouté) et 9.300 g/mol (pour 3,2 ml de monomère ajouté), c'est à dire ayant  
30       incorporé respectivement 10 et 25 motifs MM 2.1.2, ce qui correspond à une masse molaire totale pour le PMM 2.1.2 de 2.300 et 5.750 g/mol respectivement.

L'analyse thermique du copolymère permet de mettre en évidence la température de transition vitreuse du copolymère qui est respectivement de  $-18^{\circ}\text{C}$  pour le premier copolymère et  $6^{\circ}\text{C}$  pour le second copolymère, ainsi que le pic de fusion aux températures respectives de  $33^{\circ}\text{C}$  et  $39^{\circ}\text{C}$  ( $\Delta H$  de 53 et 63 J/g).

5

**Exemple 3 : Préparation d'un copolymère à blocs par voie anionique selon l'invention**

Un copolymère POE-PMM 2.1.2 a été obtenu par réamorçage d'un précurseur POE préformé de longueur déterminée, puis par réaction de l'alcoolate obtenu sur le méthylidène malonate, par la mise en oeuvre du protocole suivant :

Du PEG monohydroxylé (PEG monométhyléther ALDRICH  $M_n = 2.000$  g/mol : 1.2 g) est séché sous vide poussé dans un réacteur de polymérisation raccordé à la rampe à vide.

15 100 ml de THF anhydre sont cryodistillés sur le polymère placé à  $-70^{\circ}\text{C}$ .

La température est alors remontée progressivement à  $20^{\circ}\text{C}$  pour permettre la solubilisation du polymère.

La juste quantité de sel de lithium (Diphénylhexyllithium (0.056 M dans le THF) : 10.7 ml) est alors ajoutée goutte à goutte par l'intermédiaire d'un septum dans le réacteur.

20 La solution se décolore presque instantanément et après l'ajout, la solution est jaune pâle et atteste de la présence d'anions d'alcoolates.

Après 3 heures de réaction, le MM 2.1.2 (3,7 g) fraîchement dégazé sous vide et dilué dans 10 ml de THF anhydre est ajouté rapidement dans le réacteur à 25 température ambiante. Le milieu se décolore en quelques secondes.

Après 5 heures de polymérisation, le copolymère est terminé par ajout de 5 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est concentré puis le polymère est récupéré après précipitation dans l'éther, lavage à l'éther et séchage sous vide.

30 **Exemple 4 : Préparation d'un copolymère à blocs selon l'invention par réaction de couplage**

Un copolymère à blocs selon l'invention a été obtenu par réaction de couplage entre un homopolymère oxyéthyléné fonctionnalisé en  $\alpha$  par un

groupement carboxy ( $M_n = 5.000 \text{ g/mol}$ ) et un homopolymère du MM 2.1.2 fonctionnalisé en  $\alpha$  par un groupement hydroxy.

5 ~~La terminaison -OH de la séquence PMM 2.1.2  $\alpha$  hydroxy fonctionnalisée~~  
peut être obtenue :

– soit par la synthèse du polymère en milieu aqueux (voir Lescure F. et al ;  
Pharmaceutical Research, 11, 9, 1270–1276, 1994) ;

– soit par l'utilisation d'une solution aqueuse de soude comme amorceur de  
la polymérisation du MM 2.1.2 en milieu THF ou acétone.

10 Un équivalent de chacun des homopolymères est solubilisé dans du  
dichlorométhane ; on ajoute ensuite un équivalent de DCCI et 0,3 équivalent de  
DMAP en solution dans le dichlorométhane.

Après 10 heures de réaction à température ambiante, le trouble  
caractéristique de la dicyclohexylurée (DCHU) est éliminé par filtration.

15 Le mélange est ensuite lavé à l'acide (élimination de la DCHU résiduelle et  
de la DMAP) puis neutralisé avec une solution de carbonate de sodium.

Le copolymère s'obtient ensuite par précipitation dans l'eau, non solvant de  
la séquence majoritaire à savoir le PMM 2.1.2.

#### 20 **Exemple 5 : Préparation d'un copolymère greffé selon l'invention par voie radicalaire**

Un copolymère greffé selon l'invention a été obtenu à partir des deux  
homopolymères suivants :

25

– PEG monométhylether ALDRICH ( $M_n = 2.000 \text{ g/mol}$ ) : 0,1 g

– PMM 2.1.2 ( $M_n = 30.000 \text{ g/mol}$ ) : 0.27 g

en suivant le protocole expérimental décrit ci-après.

30

Les deux homopolymères secs sont dissous dans le toluène.

Le mélange est dégazé sous azote et porté à  $60^\circ\text{C}$ .

Le catalyseur (sel de 1-hexanol, 2-ethyl, titanate (4+), Tyzor TOT (Du  
Pont)) dilué dans un peu de toluène est alors ajouté au milieu réactionnel.



La synthèse se poursuit pendant 12 heures à 60°C.

Le brut de réaction est ensuite concentré puis reprécipité dans l'eau pour séparer le copolymère et le PMM 2.1.2 non transésthérifié du PEG non fixé.

#### 5      **Exemple 6 : Préparation d'un copolymère greffé selon l'invention par voie radicalaire**

Un copolymère greffé selon l'invention a été obtenu à partir des deux produits suivants :

10

- PEG méthacrylate (macromonomère),  $M_n = 2.000 \text{ g/mol}$  : 0.71 g
- MM 2.1.2 : 0.62 g

15      Dans un ballon tricol sont introduits les deux comonomères ainsi que le solvant (THF, 30 ml).

L'ensemble est chauffé à 40°C.

L'amorceur (percarbonate de cyclohexyle (1 % molaire par rapport au total des monomères engagés)) est ensuite introduit en solution dans du THF.

La synthèse se poursuit 18 heures à 40°C.

20      Le solvant de réaction est évaporé et le copolymère formé est encore en mélange avec une fraction de macromonomère résiduel.

L'obtention effective de copolymère peut être mise en évidence par la technique de chromatographie par perméation de gel et par la formation de micelles en milieu aqueux.

25

#### **Exemple 7 : Utilisation des copolymères selon l'invention pour l'obtention de micelles dans l'eau**

30      Obtention de micelles dans l'eau après dialyse d'une solution de copolymères dans un mélange initial THF/MeOH/H<sub>2</sub>O de composition 2/1/1 en volume.

Cet exemple a pour but de mettre en évidence les propriétés tensio-actives des copolymères POE-PMM 2.1.2 dans l'eau, par formation de micelles qui par elles-mêmes peuvent constituer des vecteurs de principe actif.

La dialyse est réalisée à travers une membrane (SPECTRA POR ref 132 638, porosité 1.000 Daltons) ne permettant qu'un échange de solvant mais évitant que le copolymère ne la traverse. La dialyse conduit à un enrichissement progressif en eau à l'intérieur du volume délimitée par la membrane.

La taille des micelles obtenues est donnée au tableau suivant :

Copolymères (*) nb unité OE/nb unité MM 212	Concentration de la solution dialysée (g/l)	Diamètre moyen en unité de poids (Dw) et déviation standard (SD) (exprimés en nm)
OE 84 -MM 13	3.5	Dw = $36.5 \pm 0.4$ SD = 7
OE 84 -MM 23	4.5	Dw = $40.6 \pm 0.1$ SD = 5
OE 114 -MM 13	4.0	Dw = $33.8 \pm 1.4$ SD = 12
OE114 -MM 8	6.8	Dw = $80.2 \pm 3.2$ SD = 24

(\*) : les copolymères sont obtenus selon le procédé décrit dans les exemples 1 et 2

10

#### Exemple 8 : Utilisation des copolymères selon l'invention par la stabilisation d'une émulsion eau-dans-huile (E/H)

Des émulsions sont réalisées en ajoutant 1 ml d'eau dans une solution de 10 ml d'acétate d'éthyle contenant une quantité prédéterminée de copolymère.

15 Le mélange est émulsifié durant 5 minutes à l'aide d'un Ultra Turrax JANKE & KUNKEL T25 à la vitesse de 13.000 tr/mn.

La stabilité des émulsions est évaluée visuellement et à l'aide d'un dispositif optique de type TURBISCAN MA 1.000.

20 Un exemple de comparaison est réalisée en utilisant un polymère de type PLURONIC®.

Les caractéristiques des émulsions sont rassemblées dans le tableau ci-dessous :

Copolymères étudiés	% POE massique	HLB selon GRIFFIN**	Durée de sédimentation de l'émulsion (heures)
PLURONIC F68 (ref)	80	16	24
OE 91 – MM* 3	85.3	17	40
OE 114 – MM* 10	68.5	14	50
OE 114 – MM* 13	62.6	12.5	170
OE 84 – MM* 13	55.3	11	400
OE 84 – MM* 23	41.1	8	> 450

(\*\*) : Relation empirique de GRIFFIN (1954) :  $HLB = 20 \cdot (\text{poids moléculaire des fonctions hydrophiles}) / (\text{poids moléculaire total})$ .

(\*) : MM représente MM 2.1.2

#### Exemple 9 : Mesure de tension superficielle de solution aqueuse de copolymères PMM212-POE

Dans le but de vérifier le caractère tensioactif des copolymères synthétisés, des mesures de tension superficielle sont réalisées sur des solutions aqueuses de copolymères de concentration 10 g/l, obtenues par dissolution directe du copolymère dans l'eau. Les solutions sont laissées au repos 12 heures avant d'être étudiées.

Les mesures ont été réalisées à 20°C, à l'aide d'un appareil TENSIMAT® n3 (Prolabo) en utilisant une lame de platine

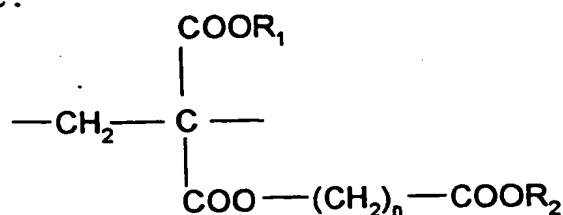
Solution	Tension superficielle (mN/m)
Eau pure	72
Pluronic F68	46
OE 114-MM 13*	44
OE 84-MM 13*	40
OE 84-MM 23*	41

(\*) : nb unité OE/nb unité MM212. Les copolymères sont obtenus selon le procédé décrit dans les exemples 1 et 2.

## REVENDICATIONS

1. Copolymères biocompatibles du type comportant au moins une séquence présentant un caractère hydrophile et au moins une séquence présentant un caractère hydrophobe, caractérisés en ce que ladite séquence à caractère hydrophobe est formée :

– soit d'un homopolymère constitué d'unités récurrentes répondant à la formule générale (I) suivante :



10

dans laquelle :

- $R_1$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ou un groupe  $(\text{CH}_2)_m - \text{COOR}_3$  dans lequel  $m$  est un nombre entier compris entre 1 et 5 et  $R_3$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ;
- $R_2$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ; et
- $n$  est un nombre entier compris entre 1 et 5 ;
- soit d'un copolymère statistique constitué d'unités récurrentes différentes répondant à la formule (I) telle que définie précédemment ;
- soit enfin d'un copolymère statistique majoritairement constitué d'unités répondant à la formule (I) telle que définie précédemment.

20

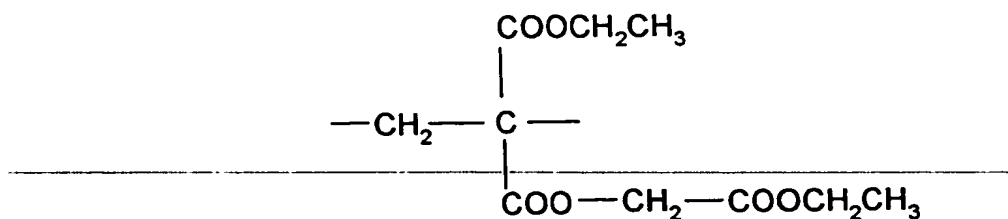
2. Copolymères selon la revendication 1, caractérisés en ce que la séquence à caractère hydrophobe précitée est constituée d'unités récurrentes répondant à la formule générale (I) précitée dans laquelle :

- $R_1$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ;
- $R_2$  représente un groupe alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone ; et
- $n$  est un nombre égal à 1.

25

3. Copolymères selon la revendication 1, caractérisés en ce que la séquence à caractère hydrophobe précitée est constituée d'unités récurrentes répondant à la formule :

30



4. Copolymères selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que la séquence à caractère hydrophile précitée est choisie parmi un poly(oxyéthylène), un poly(alcoolvinylique), une poly(vinylpyrrolidone), un poly(N-2 hydroxypropyl méthacrylamide), un poly(hydroxyéthylméthacrylate), un poly(amino acide) hydrophile tel qu'une polylysine, un polysaccharide.

5. Copolymères selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisés en ce qu'ils présentent une structure à blocs, de préférence di-blocs ou tri-blocs, ou une structure greffée.

6. Copolymères selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisés en ce qu'ils présentent une teneur pondérale en séquence à caractère hydrophobe comprise entre 5 et 95 %, de préférence entre 10 et 90 %.

7. Copolymères selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que la masse molaire totale des séquences à caractère hydrophobe est comprise entre 1.000 et 80.000 g/mol, et de préférence entre 1.000 et 50.000 g/mol.

8. Utilisation des copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 pour la préparation de systèmes micellaires, d'émulsions, pour la préparation ou la stabilisation de nano particules, ou pour l'encapsulation de substances actives.

9. Utilisation des copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 comme agents de traitement de surface de matériaux ou de biomatériaux en particulier pour conférer par ancrage desdits copolymères un caractère hydrophile aux surfaces traitées.

10. Utilisation des copolymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 comme agents de traitement de surface de matériaux ou de biomatériaux susceptibles d'entrer en contact avec des tissus animaux, des cellules ou des biomolécules, en particulier pour minimiser l'adhésion interfaciale avec lesdits tissus animaux, cellules ou biomolécules.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**